

Nasschemische Nachweise zur Identitätsprüfung von Benevi Neutral Gesichtsscreme

Glycerol	1 g Grundlage mit ca. 2 g Kaliumhydrogensulfat in einem Reagenzglas erhitzen. In die entstehenden Dämpfe wird ein mit Neßlers Reagenz imprägniertes Filterpapier gehalten. Das Filterpapier färbt sich dunkelgrau bis schwarz.	
<p>Erhitzt man Glycerin mit wasserentziehenden Mitteln (hier: Kaliumhydrogensulfat), so entsteht das stechend riechende Aldehyd Acrolein. Bei der Dehydratisierung handelt es sich um eine säurekatalysierte Eliminierungsreaktion. Die Reaktion mit Neßlers Reagenz beruht auf der Reduktion der darin enthaltenen Quecksilber-Ionen zu elementarem Quecksilber unter gleichzeitiger Oxidation des Aldehyds Acrolein zur Carbonsäure.</p> <p>Unter den gegebenen Reaktionsbedingungen reagiert nicht nur Glycerol, sondern auch das in der untersuchten Grundlage enthaltene Glycerolmonocaprylat. Nicht zuletzt deshalb ist in Benevi Neutral Gesichtsscreme ausreichend Glycerol/Glycerolmonocaprylat enthalten, um einen positiven Nachweis zu geben. Eine glycerolfreie Blindprobe reagiert unter den gegebenen Reaktionsbedingungen nicht.</p>		
		
Imprägniertes Filterpapier vor der Reaktion	Reaktionsergebnis für Benevi Neutral Gesichtsscreme	Reaktionsergebnis einer glycerolfreien Blindprobe
Panthenol	Ein Klecks Grundlage (ca. 0,5 g) wird auf einer Tüpfelplatte mit 1 bis 2 Tropfen Kupfer(II)-sulfat-Lösung <i>R</i> versetzt. Es entsteht eine blaue Färbung.	
<p>Der Zusatz von Cu^{2+}-Ionen führt zu einer Blaufärbung, die auf einer Komplexbildung der Pantoinsäure-Partialstruktur mit den Cu^{2+}-Ionen beruht, wobei sowohl die beiden Hydroxygruppen, als auch der Carbonyl-Sauerstoff der Amidfunktion als Liganden beteiligt sind. Die Bildung blauer Kupfer(II)-Komplexe ist nicht spezifisch für Panthenol, da zahlreiche weitere Liganden mit Cu^{2+}-Ionen ebenfalls zu blauen Komplexen reagieren können. Solche sind jedoch, soweit aus der Zusammensetzungsliste der Grundlagen ersichtlich, nicht enthalten.</p> <p>Zwar ist die Kupfer(II)-sulfat-Lösung selbst ebenfalls schwach blau gefärbt, allerdings wird der kompakten, weißen Creme so wenig der Lösung zugesetzt, dass allein dadurch mit bloßem Auge keine Färbung wahrnehmbar ist. Dies wurde exemplarisch durch Bildproben mit Panthenol-freien Cremes überprüft (s. Foto unten). Insofern kann durch den einfachen Mischtest auf der Tüpfelplatte ein Indiz für den Identitätsnachweis von Panthenol generiert werden. Allerdings ist festzustellen, dass die durch Benevi Neutral Gesichtsscreme verursachte Blaufärbung zwar mit bloßem Auge wahrnehmbar, im Vergleich zu anderen halbfesten panthenolhaltigen Grundlagen (auch im Vergleich zu Benevi ISO Intensivcreme) aber nur schwach ausgeprägt ist. Den Panthenol-Nachweis wird daher im Fall von Benevi Neutral Gesichtsscreme nur als bedingt zur Identitätsprüfung geeignet beurteilt und bleibt bei der Auswahl der für die Ausgangsstoffprüfung einzusetzenden Prüfmethode unberücksichtigt, da andere Methoden eindeutiger Prüfergebnisse liefern.</p>		



Benevi Neutral Gesichtsscreme



Panthenolfreie Blindprobe

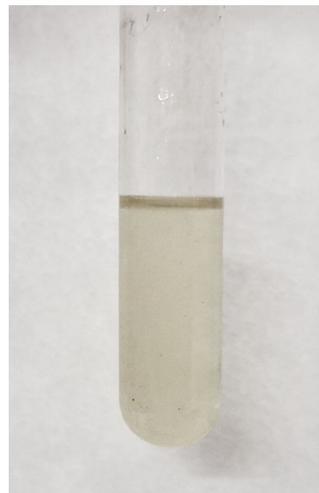
Tocopherolacetat

Eine Spatelspitze (ca. 1 g) Zubereitung in 5 ml Ethanol 96% *R* lösen bzw. dispergieren. Nach Zusatz von 1 mL Salpetersäure *R* 30 Minuten lang im ca. 90 °C heißen Wasserbad erwärmen. Es entsteht eine kräftige Gelbfärbung.

Wird eine tocopherolacetathaltige, ethanolische Lösung/Dispersion mit rauchender Salpetersäure versetzt und erwärmt, tritt üblicherweise zuerst eine Gelbfärbung, bei längerem Erwärmen dann eine Rotfärbung ein. Einleitender Schritt ist die saure Hydrolyse des Acetats zum freien Tocopherol, welches in Gegenwart des Oxidationsmittels Salpetersäure zu Tocopherol-Rot oxidiert wird. Bei dieser Umsetzung wird durch die Einwirkung der Salpetersäure eine Methyl-Gruppe zur Carboxy-Gruppe oxidiert, die danach unter Bildung des entsprechenden Chinons decarboxylieren kann. Um eine dem DAC-Nachweis äquivalente Menge von Tocopherolacetat in der Prüflösung zu erhalten, müssten ca. 10 g Grundlage eingesetzt werden. So große Mengen sind für die Durchführung eines einzelnen Identitätsnachweises nicht praktikabel, sodass die Probenmenge für die hier durchgeführte Untersuchung deutlich reduziert werden musste. Dementsprechend fällt auch die Färbung bei Benevi Neutral Gesichtsscreme deutlich schwächer aus und die Reaktionszeit im Wasserbad musste im Vergleich zum Nachweis für Tocopherolacetat als Reinstoff deutlich verlängert werden (30 Minuten statt 3 Minuten). Während beim Reinstoff zunächst eine Gelb- und nach dem Erwärmen eine Rotfärbung sichtbar ist, ist die Prüflösung mit Benevi Neutral Gesichtsscreme zunächst nur sehr schwach gelblich gefärbt und verläuft auch im Wasserbad lediglich bis zu einem kräftigen Orange. Dennoch wird das Prüfergebnis unter diesen Bedingungen als eindeutig und reproduzierbar bewertet. Es unterscheidet sich deutlich von tocopherolfreien Blindproben. Dementsprechend wird das Nachweisergebnis trotz des nur in geringer Konzentration enthaltenen Tocopherolacetats für diesen Bestandteil von Benevi Neutral Gesichtsscreme als charakteristisch angesehen.



Benevi Neutral Gesichtsscreme



Tocopherolfreie Blindprobe

Allantoin

Variante 1:
2,5 g Grundlage werden erhitzt. Das sich entwickelnde Ammoniakgas färbt rotes Lackmuspapier *R* blau.

Aus reinem Allantoin entsteht durch thermische Zersetzung gasförmiger Ammoniak, welcher Lackmuspapier blau färbt. Da die Prüfung sehr schnell und einfach durchführbar ist, wurde im Rahmen der Methodenevaluierung geprüft, ob sie evtl. geeignet wäre, Allantoin auch aus der Grundlage Benevi Neutral Gesichtsscreme heraus nachzuweisen, was jedoch misslang. Dies liegt mutmaßlich an der im Vergleich zu Wasser geringen Allantoin-Menge in Benevi Neutral Gesichtsscreme. Dementsprechend bildet sich beim Erhitzen der Grundlage eine erhebliche Menge Wasserdampf, die den in geringerer Menge entstehenden Ammoniak so stark verdünnt, dass die Farbreaktion auf dem roten Lackmuspapier ausbleibt. Die Methode ist damit als Identitätsprüfung für Benevi Neutral Gesichtsscreme ungeeignet, weshalb nachfolgend eine zweite Variante des Allantoin-Nachweises evaluiert wurde.

Variante 2:

2,5 g Grundlage werden in einer Mischung von 1 ml verdünnter Natriumhydroxid-Lösung *R* und 1 ml Wasser *R* zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird 1 ml verdünnte Salzsäure *R* zugesetzt. 0,1 ml Lösung werden mit 0,1 ml einer Lösung von Kaliumbromid *R* ($100 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), 0,1 ml einer Lösung von Resorcin *R* ($20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) und 3 ml Schwefelsäure *R* versetzt. Beim 2 Minuten langen Erhitzen im Wasserbad (ca. 90°C) entwickelt sich eine tiefrote Färbung.

Durch alkalische Spaltung des Reinstoffs Allantoin und anschließende Neutralisation mit Salzsäure entsteht Glyoxylsäure, die bei dieser Prüfmethode unter Pesez-Bedingungen weiterreagiert. Dabei kondensiert Glyoxylsäure mit Resorcin zu einem Diphenylmethan-Derivat. Durch weitere Oxidation entsteht ein chinoides System, das durch Brom substituiert wird und in schwefelsaurer Lösung als Oxoniumsalz vorliegt. Das chinoide System ist mesomeriestabilisiert und in warmer Lösung tiefblau gefärbt.

Um eine dem Arzneibuch-Nachweis äquivalente Menge Allantoin in der Prüflösung zu erhalten, müssten ca. 7 g Grundlage eingesetzt werden. So große Mengen sind für die Durchführung eines einzelnen Identitätsnachweises natürlich nicht praktikabel und auch geeignete Extraktions- bzw. Aufkonzentrationsverfahren sind nicht etabliert, sodass die Probenmenge für die hier durchgeführte Untersuchung auf ein für den Apothekenalltag akzeptables und praktikables Niveau reduziert werden musste. Dementsprechend entwickelt sich die Farbe erst allmählich und erreicht auch keinen Blau-, sondern lediglich einen dunklen Rotton. Die abweichende Farbe kann teilweise auch damit erklärt werden, dass die zugesetzte Schwefelsäure mit den in der Grundlage enthaltenen Kohlenwasserstoffen unter teilweiser Kohlenstoffbildung reagiert. Um sicherzustellen, dass die Färbung nicht maßgeblich auf eine solche Nebenreaktion zurückzuführen ist, wurde die Prüfung zusätzlich ohne Resorcin und Kaliumbromid durchgeführt. Wie die Fotos (s.u.) zeigen, ergibt sich zwar eine gewisse Färbung, die ebenfalls im Laufe der Zeit zunimmt, deren Intensität sich jedoch über den Beobachtungszeitraum von zwei Minuten eindeutig von der sehr viel kräftigeren Färbung des o.g. chinoiden Systems unterscheidet. Auch von der Färbung einer allantoinfreien Blindprobe unterscheidet sich das Prüfergebnis signifikant.

Vor dem Hintergrund der vorausgehenden Ausführungen erscheint es daher nicht überraschend, dass die für den Reinstoff typische Blaufärbung in warmer schwefelsaurer Lösung aus der Matrix von Benevi Neutral Gesichtsscreme heraus nicht auftritt, dennoch ist die entstehende Rotfärbung reproduzierbar und charakteristisch. Insbesondere wenn man die Betrachtung im zeitlichen Verlauf als zusätzliches Beurteilungskriterium berücksichtigt: die zunächst helle bzw. fahle Ockerfärbung geht in dem Maße in einen dunkleren Orangeton und schließlich in eine tiefe Rotfärbung über, wie die geringe in der Probe enthaltene Allantoin-Menge zunehmend mit Resorcin und Brom reagiert. Sie eignet sich daher, um – neben anderen Einzelnachweisen – einen Beitrag zur Identifizierung von Benevi Neutral Gesichtsscreme im Rahmen der Ausgangsstoffprüfung in der Apotheke zu leisten.

		
Proben mit Benevi Neutral Gesichtsscreme		
Unmittelbar nach Zugabe der Schwefelsäure	30 Sek. nach Zugabe der Schwefelsäure	2 Min. nach Schwefelsäure-Zugabe bzw. nach Erwärmen
		
Blindprobe	Probe ohne Kaliumbromid und Resorcin unmittelbar nach Schwefelsäure-Zugabe	Probe ohne Kaliumbromid und Resorcin 2 Min. nach Schwefelsäure-Zugabe bzw. nach Erwärmen auf 90 °C
Citronensäure	Etwa 1 bis 1,5 Gramm Grundlage wird eine Mischung von 1 mL Acetanhydrid <i>R</i> und 3 mL Pyridin <i>R</i> zugesetzt. Unmittelbar nach der Zugabe der Reagenzien entwickelt sich eine zunächst hellgelbe Färbung, die binnen weniger Minuten in eine Rotfärbung übergeht.	
<p>Citronensäure gibt mit Acetanhydrid und Pyridin eine Rotfärbung, die zur Unterscheidung von anderen Carbonsäuren wie z. B. Weinsäure dient. Erstes Zwischenprodukt ist nachweislich das Acetylcitronensäure-γ-anhydrid, das sich auch ohne Zusatz von Acetanhydrid in Pyridin rot färbt. Die genaue Struktur des roten Reaktionsprodukts ist noch ungeklärt, dennoch sieht auch das Arzneibuch diese Reaktion als einen von mehreren Nachweisen für Citronensäure vor. Die Spezifität des Nachweises wird allerdings als nicht sehr hoch angesehen, da auch andere (meist kurzkettige) organische Säuren positiv reagieren. Die Präsenz entsprechend reaktionsfähiger Säuren bzw. Säurereste in den verarbeiteten, natürlichen Fetten bzw. fetten Ölen (ggf. auch durch partielle Hydrolyse) ist zwar nicht ausgeschlossen, wird jedoch als unwahrscheinlich angesehen, was durch das negative Prüfergebnis bestätigt wird.</p> <p>Um eine dem Arzneibuch-Nachweis äquivalente Menge Citronensäure in der Prüflösung zu erhalten, müssten ca. 50 g Grundlage eingesetzt werden. So große Mengen sind für die Durchführung eines einzelnen Identitätsnachweises selbstredend nicht praktikabel und auch geeignete Extraktions- bzw. Aufkonzentrationsverfahren sind nicht etabliert, sodass die Probenmengen für die hier durchgeführten Untersuchungen auf ein für den Apothekenalltag akzeptables und praktikables Niveau reduziert werden muss. Dies hatte offenkundig zur Folge, dass die in der Prüflösung enthaltene</p>		

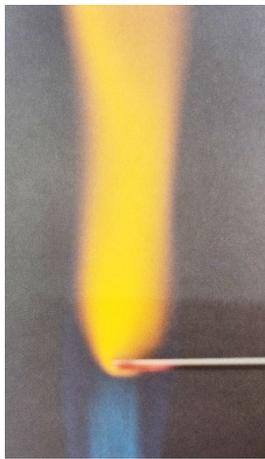
Citronensäure-Menge unter der Nachweisgrenze liegt, da keine mit bloßem Auge wahrnehmbare Färbung mehr beobachtet werden konnte. Die Prüfmethode wurde daher als für die Identitätsprüfung von Benevi Neutral Gesichtscreme ungeeignet befunden.

Natrium-Ionen

Eine kleine Menge Grundlage wird mit einem ausgeglühten Magnesiastäbchen aufgenommen und in die nicht leuchtende Bunsenbrennerflamme gehalten. Die Flamme färbt sich längere Zeit intensiv gelb.

Laut Arzneibuch-Kommentar sind die beiden nasschemischen Natrium-Nachweise der Ph.Eur. relativ störanfällig und erfordern sehr genaues Arbeiten. Der spektralanalytische Nachweis von Natrium wird daher laut Arzneibuch-Kommentar als die einfachere und schnellere Methode bewertet.

Werden natriumhaltige Verbindungen in die nicht leuchtende Bunsenbrennerflamme eingebracht, reicht die Flammenenergie aus, um Natriumatome in einen angeregten Zustand zu überführen. Dabei geht das 3s-Valenzelektron unter Energieaufnahme in ein höheres Energieniveau über. Dieser Zustand hat nur eine mittlere Lebensdauer von etwa 10^{-9} Sekunden. Beim Übergang in den Grundzustand wird die zur Anregung erforderliche Energie abgegeben, die der gelben Farbe entspricht ($\lambda = 589 \text{ nm}$). Der Nachweis ist extrem sensitiv, sodass bereits die geringe in Benevi Neutral Gesichtscreme enthaltene Natriummenge ausreicht, eine charakteristische und eindeutig erkennbare Flammenfärbung zu ergeben.



Benevi Neutral Gesichtscreme



Natriumfreie Blindprobe